

Gymnemagenin, vermutliche Struktur

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie,
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

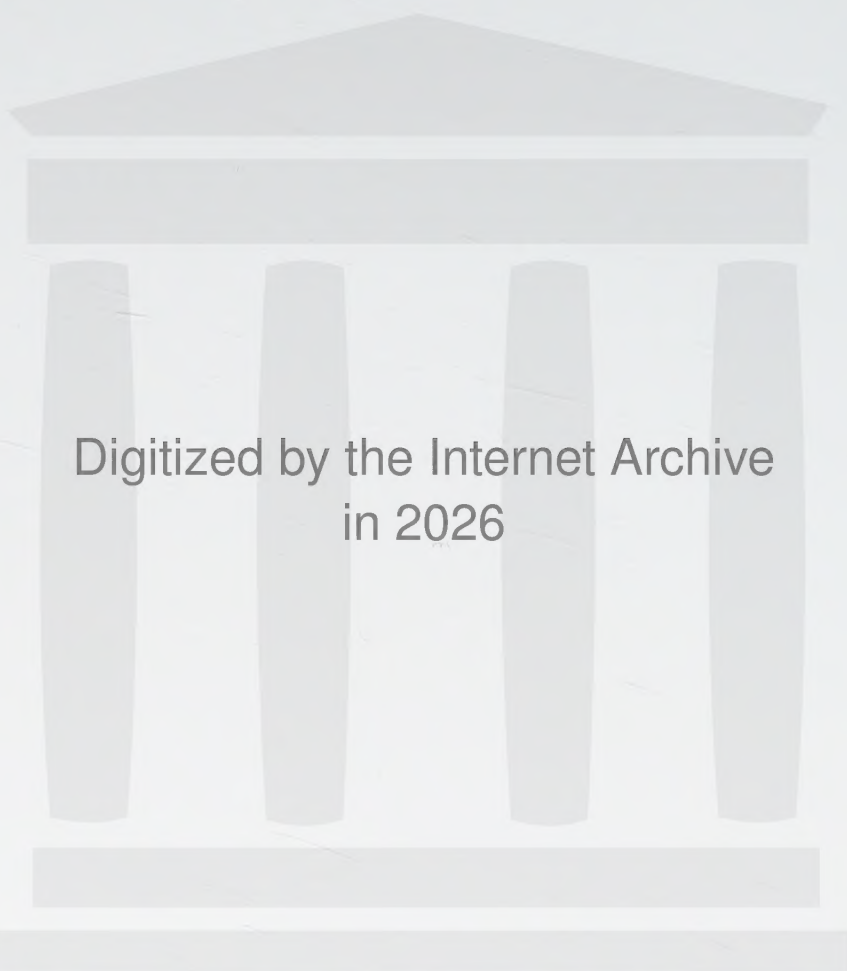
von

WALTER STÖCKLIN

aus Ettingen (Baselland)

1965

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546706_0070

Gymnemagenin, vermutliche Struktur

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie,
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

WALTER STÖCKLIN

aus Ettingen (Baselland)

Basel

Buchdruckerei Birkhäuser AG.

1967

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der Herren Proff. Dr. T. REICHSTEIN und Dr. H. ERLÉNMEYER.

Basel, den 1. Juni 1965

Prof. Dr. H. ANNAHEIM
Dekan

Herrn WALTER STÖCKLIN wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 1. Juni 1965 erlaubt, diesen Teildruck seiner am 1. Juni 1965 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

*«Gymnemasäure – Das antisaccharine Prinzip von Gymnema sylvestre
R. BR.»*

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Organisch-Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



Gymnemagenin, vermutliche Struktur

Glykoside und Aglykone, 289. Mitteilung²⁾

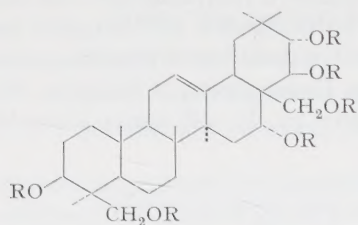
Wie in vorstehender Mitteilung [1] berichtet, stellt Gymnemasäure, das antisaccharine Prinzip von *Gymnema sylvestre* R. Br. (*Asclepiadaceae*), ein Gemisch nahe verwandter Stoffe dar. Sie enthalten alle das D-Glucuronid des Gymnemagenins, das mit mehreren aliphatischen Säuren verestert ist, und unterscheiden sich lediglich im Veresterungsgrad. Hier wird über die vermutliche Struktur des Gymnemagenins berichtet. Danach ist Gymnemagenin vermutlich ein Hexahydroxy- Δ^{12} -oleanen, für das eine der vier Formeln 8–11 am wahrscheinlichsten ist. Es soll später versucht werden, eine Entscheidung zu treffen.

Reines Gymnemagenin wird am besten durch fermentative Spaltung gereinigter Gymnemasäure mit Schneckenferment in wässriger KHCO_3 -Lösung und anschließende alkalische Hydrolyse erhalten. Gymnemagenin kristallisiert sehr gut und konnte bisher mit keinem bekannten Stoff identifiziert werden. Für die angegebenen Formeln sprechen folgende Befunde.

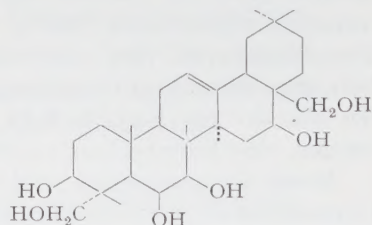
Die Analyse passte auf die Formel $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_6 + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$. Das Anionen-Massenspektrum (Fig. 4) zeigte eine sehr starke Spitze bei m/e 505 entspr. $M - 1$. Bei normaler Ausführung (Kationenspektrum, vgl. Fig. 6) liess sich nur bei hoher Verstärkung eine sehr schwache Spitze des Molekel-Ions bei 506 feststellen, sehr deutlich ist die Spitze bei 488 ($= M - 18$), weitere charakteristische Bruchstücke siehe unten. Die Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid bei 35° (16 Std.) lieferte ein einheitliches Derivat, das auch durch Kochen mit reinem Acetanhydrid nicht weiter verändert wurde. Es war zunächst zweifelhaft, ob es sich um ein Penta- oder Hexa-O-acetylderivat handelte, denn die Analyse gibt keine zuverlässige Auskunft und im NMR.-Spektrum (Fig. 11) waren sowohl in CDCl_3 wie in Hexadeuterobenzol nur 5 getrennte Acetylsignale sichtbar. Obwohl eines deutlich höher war als die 4 andern, ist eine wirklich eindeutige Integration nicht gelungen. Ferner zeigte das IR.-Spektrum (Fig. 9 bei [1]) zwei deutliche, allerdings sehr schwache Banden bei 3675 cm^{-1} und ca. 3445 cm^{-1} . Dass es sich trotzdem um ein Hexa-O-acetylderivat handelt, ergab sich eindeutig aus dem Studium von Derivaten. Auch das Massenspektrum (Fig. 7) wäre mit der Formel $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$ eines Hexa-O-acetylderivates verträglich, obwohl bei m/e 758 nur bei hoher Verstärkung eine sehr schwache Spitze eines Molekel-Ions sichtbar wird. Das UV.-Spektrum des Gymnemagenins und seines O-Acetylderivates zeigt nur im kurzwelligen Gebiet selektive Absorption ($\epsilon = 8000$ bei 196 nm in Alk), entspr. einer trisubstituierten Doppelbindung. Das Acetylderivat gab mit Tetranitromethan deutliche Gelbfärbung. Der Stoff blieb aber beim Schütteln mit akt. Pt in AcOH bei 20° in H_2 -Atmosphäre unverändert. Einwirkung von CrO_3 auf das O-Acetylderivat in

²⁾ 288. Mitteilung: W. Stöcklin et al. [1].

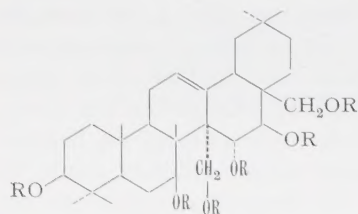
AcOH bei 20° (24 Std.) lieferte neben Ausgangsmaterial ein krist. α,β -ungesättigtes Keton $C_{42}H_{60}O_{13}$ (**12**). Das Vorhandensein von unverändertem Ausgangsmaterial nach so langer Einwirkung zeigt, dass im O-Acetylderivat keine freie sekundäre HO-Gruppe mehr anwesend war. Ausserdem waren im NMR.-Spektrum (Fig. 12) des Ketons **12** im Acetylgebiet (zwischen $\delta = 1,86$ und $2,17$ ppm) jetzt sechs Signale eindeutig sichtbar. Auch dieser Stoff zeigte im IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2) bei 3445 cm^{-1} und 3660 cm^{-1} zwei sehr schwache Banden, die wir zuerst nicht erklären konnten. Nach dem Trocknen von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin während 72 Std. bei 110° und 0,001 Torr und Aufnahme des Spektrums in CCl_4 war die Bande bei höherer Frequenz verschwunden und die andere nach 3465 cm^{-1} verschoben. Die verschwundene Bande musste also von Wasser herkommen, während die Bande bei 3465 cm^{-1} eine Oberschwingung der Carbonylbande darstellen dürfte. Das Keton **12** zeigte im



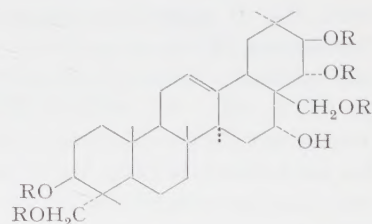
- 1** R = H Protoascigenin [3]
F. 310° [+30,5 Alk]³⁾
2 R = Ac Hexa-O-acetyl-protoascigenin
F. 139–140° [–3,0 Chf]



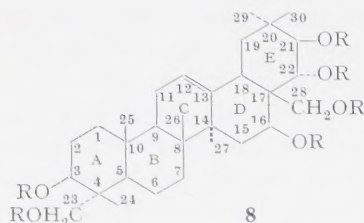
- 3** Tanginol [4]
Hypothetische Formel
F. 283–284° [+9]



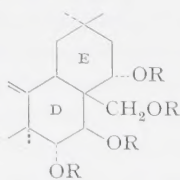
- 4** R = H 7β-Hydroxy-A₁-barrigenol [5]
F. 308–310° [+37 Diox]
5 R = Ac Hexa-O-acetyl-7β-hydroxy-A₁-barrigenol
F. 186–187,5° [–28]



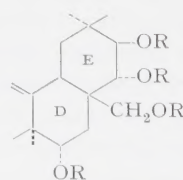
- 6** R = H Theasapogenol A [6]
F. 301–303° [+14 Py]
7 R = Ac Penta-O-acetyl-theasapogenol A
F. 174–178° [+29 Chf]



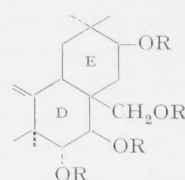
- R = H Gymnemagenin $C_{30}H_{50}O_6$ [1]
F. 328–335° [+53,1 ± 2 Me]



- R = Ac Hexa-O-acetyl-gymnemagenin $C_{42}H_{62}O_{12}$
F. 290–291° [+35,5 ± 2 Chf]

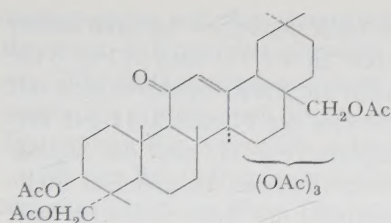


10

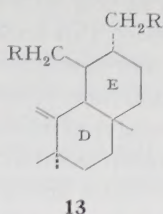


11

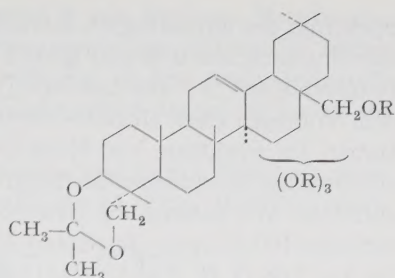
³⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Exper. Teil der vorstehenden Mitteilung [1].



12 Hexa-O-acetyl-11-oxo-gymnemagenin
F. 315,5–316° [$+41,5 \pm 3$ Chf]⁴⁾

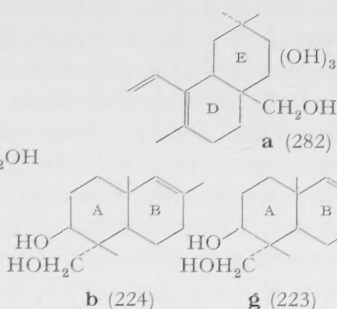
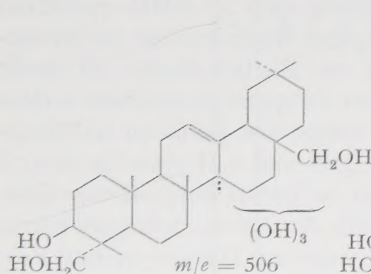


13

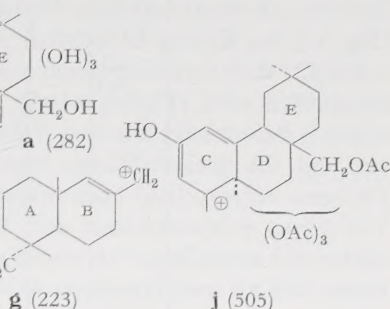


14 R = H Mono-O-isopropyliden-gymnemagenin
F. 276–281°⁵⁾

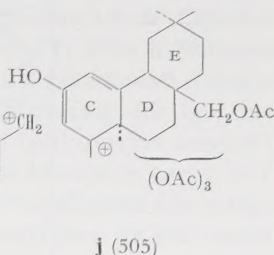
15 R = Ac Tetra-O-acetyl-mono-O-isopropyliden-gymnemagenin
F. 305–306°⁵⁾



b (224)



g (223)



j (505)

UV. selektive Absorption mit Maxima bei 242,5 nm ($\epsilon = 12000$) und ca. 335 nm ($\epsilon = 49$). Auch das IR.-Spektrum zeigte Banden bei 1659 cm^{-1} und 1623 cm^{-1} , die für α,β -ungesättigte Ketone typisch sind. Das Massenspektrum (Fig. 8) zeigte eine schwache, aber deutliche Spitze des Molekel-Ions bei $m/e = 772$ (weitere Diskussion siehe unten). Der Verlauf der Oxydation ist für Amyrinderivate charakteristisch. Bei der Optischen Rotationsdispersion⁶⁾ des α,β -ungesättigten Ketons **12** war im Gebiet von 310–390 nm kein COTTON-Effekt feststellbar, wie er von KARLINER & DJERASSI [2] bei andern 11-Oxo- Δ^{12} -oleanen-Derivaten beobachtet worden war. Möglicherweise ist das Vorhandensein von 6 Acetoxygruppen dafür verantwortlich.

Als besonders starke Stütze, dass tatsächlich ein Amyrinderivat vorliegt, betrachten wir die Massenspektren. Im Spektrum des freien Genins (Fig. 6) sind von den nach DJERASSI *et al.* [7] [8] [2] zu erwartenden Bruchstücken **a**, **b** und **g** (und ihren Folgeprodukten) besonders 264 (**a** – 18) und 223 (**g**) deutlich. Beim Hexa-O-acetyl-derivat (Fig. 7) sind analoge Spitzen bei m/e 390 (**a** – 60) und 307 (**g**) sichtbar. Diese Spaltung zeigt ausserdem, dass sich von den total sechs HO-Gruppen zwei in den Ringen A und B und die vier weiteren in den Ringen D und E befinden müssen. Im

⁴⁾ Wir danken Frl. Dr. R. REUBKE und Herrn P. BADER, Analyt. Labor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Bestimmung dieser Drehung. Es diente dazu ein CARL-ZEISS lichtelektrisches Präzisionspolarimeter 0,005°.

⁵⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

⁶⁾ Wir danken Herrn Prof. W. KLYNE, Westfield College, University of London, bestens für die Aufnahme der ORD.-Kurven (W 5931 vom 22. 11. 66 in Dioxan und in Methanol).

Spektrum des ungesättigten Ketons **12** (Fig. 8) wäre nach denselben Autoren ausser den Bruchstücken **a**, **b** und **g** auch noch **j** zu erwarten. In der Tat sind in Fig. 8 die Fragmente 404 (**a** – 60) und 505 (**j**) sehr deutlich. Auch die NMR.-Spektren sind mit dem Vorliegen eines Hexa-O-acetylderivates eines Stoffes der Formel **8–11** gut vereinbar. Im Spektrum von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin (Fig. 11) sind die Signale von 6 tertiär gebundenen Methylgruppen sichtbar, wobei zwei an der gleichen Stelle auftreten. Wir nehmen an, dass von den 8 Methylgruppen des Amyrinskeletts zwei mit einer HO-Gruppe substituiert sind, da entsprechende Signale (zwei *AB*-Spektren) bei $\delta = 3,68$ (1 H, $J = 12$ Hz), $3,84$ (1 H, $J = 12$ Hz) und $3,88$ (1 H, $J = 11$ Hz), $4,24$ (1 H, $J = 11$ Hz) sichtbar sind. Bei einem Derivat des α -Amyrins (entspr. Teilformel **13**) wären nur sechs tertiäre Methylgruppen und zwei sekundäre zu erwarten. Eine entsprechende Aufspaltung war im NMR.-Spektrum weder bei den Methylsignalen sichtbar noch zeigten die *AB*-Spektren eine weitere Aufspaltung. Sehr deutlich sind die sechs tertiären Methylgruppen als Singlette auch im NMR.-Spektrum (Fig. 12) des Ketons **12** sichtbar. Für die Anordnung der Hydroxyle ist zu berücksichtigen, dass Gymnemagenin von NaJO_4 [9] sowie von Bleitetraacetat [10] leicht angegriffen wird (Tüpfelprobe⁷⁾), so dass zwei dieser Gruppen benachbart stehen müssen. Ferner folgt aus dem NMR.-Spektrum, dass ausser zwei primären HO-Gruppen (vgl. die obenerwähnten Signale bei 3,68, 3,84, 3,88 und 4,24 ppm die total 4 Protonen entsprechen) noch insgesamt fünf Protonen bei tiefem Feld sichtbar sind. Von diesen entspricht eines dem Vinylproton (an C-12), das bei ca. 5,39 ppm liegen dürfte und weitgehend von einem weiteren Signal überlagert ist. Die vier weiteren Protonen sind als zwei Quartette ($\delta = 4,74$ und $5,89$ ppm, je ein Proton) und ein *AB*-Spektrum ($\delta = 5,13$ und $5,41$ ppm, je 1 H, $J = 11$ Hz) sichtbar. Dies zeigt, dass keine tertiäre HO-Gruppe vorliegen kann.

Demnach stellt Gymnemagenin vermutlich ein Δ^{12} -Oleanenderivat mit zwei primären und vier sekundären HO-Gruppen dar. Nach dem Massenspektrum enthalten die Ringe A und B zwei, die Ringe D und E vier Hydroxylgruppen.

Soweit wir feststellen konnten, sind in der Literatur bisher die folgenden sechs Hexahydroxy-triterpenderivate der Formel $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_6$ bekannt:

Stoff $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_6$	Freies Genin		Acetylderivat		
	Smp.	$[\alpha]_D$	Smp.	$[\alpha]_D$	vermutliche Bruttoformel
Dihydrotheasapogenol [11]	326°		145–146°		$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$
7 β -Hydroxy- A_1 -barrigenol [4]	308–310°	+ 37° Diox	186–187,5°	– 28°	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$
Tanginol [3]	283–284°		306–308°	+ 43°	$\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_{11}$
Protoäscigenin [2]	310°	+ 30,5° Alk	139–140°	– 3,0° Chf	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$
Theasapogenol A [5]	301–303°	+ 14° Py	174–178°	+ 29° Chf	$\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_{11}$
Barringtogenol B [12]	249°	+ 6° Chf			
Gymnemagenin (z. Vergleich)	328–335°	+ 53,1° Me	290–291°	+ 35,5° Chf	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{12}$

Die ersten vier konnten direkt verglichen werden (vgl. Fig. 1–3). Danach sind alle vier von Gymnemagenin verschieden. Die ähnlichsten Eigenschaften weist Dihydro-

⁷⁾ Ausführung im Mikromaßstab auf SiO_2 -Platten. Die Reaktion ist dabei empfindlicher als auf Papier.

theasapogenol auf, das vermutlich mit Theasapogenol A von YOSIOKA, NISHIMURA, MATSUDA & KITAGAWA identisch ist. Freies Gymnemagenin liess sich im DC bisher von Dihydrotheasapogenol nicht unterscheiden (vgl. Fig. 1). Die Acetylderivate⁸⁾ zeigten im System von Fig. 2 ebenfalls gleiche Laufstrecken, liessen sich aber im System von Fig. 3 deutlich unterscheiden.

Bei der Behandlung von Gymnemagenin mit Aceton und CuSO_4 lässt sich unter anderem leicht das Mono-O-isopropyliden-gymnemagenin **14** (Präp. WST 21) erhal-

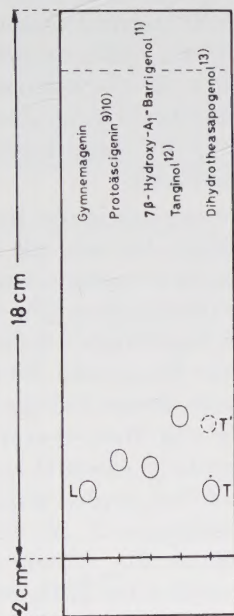


Fig. 1
Chf-Me-(9:1)³⁾ ¹⁴⁾
ca. 40 Min.

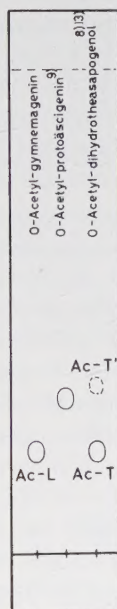


Fig. 2
Be-Ae-(1:1)³⁾ ¹⁴⁾
ca. 30 Min.

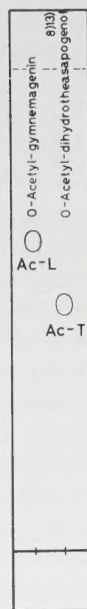


Fig. 3
Chf-Eg-Me-
(97:2:1)³⁾ ¹⁴⁾
ca. 40 Min.

⁸⁾ Eine Probe Dihydrotheasapogenol von Prof. M. ISHIDATE¹³⁾ wurde mit $\text{Py}/\text{Ac}_2\text{O}$ bei 35° während vier Tagen acetyliert. Wie beim nicht acetylierten Stoff (vgl. Fig. 1) konnte auch hier neben dem Hauptfleck (Ac-T) ein Nebenprodukt (Ac-T') festgestellt werden.

⁹⁾ Wir danken Herrn Prof. R. KUHN, MAX-PLANCK-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg, bestens für die Überlassung einer Probe Protoäscigenins sowie einer Probe des Hexa-O-acetylderivates [3].

¹⁰⁾ Im DC war noch ein zweiter schwacher Fleck sichtbar, bei dem es sich nach der Laufstrecke um Barringtonen C (Äscinidin) [13] [14] handeln könnte.

¹¹⁾ Wir danken Herrn Prof. NOEL BAYLISS, F.A., University of Western Australia, Nedlands, Perth, bestens für die Überlassung einer Probe 7β -Hydroxy- A_1 -barrigenol sowie einer Probe dessen Hexa-O-acetylderivats [5].

¹²⁾ Wir danken Herrn Prof. L. RAMACHANDRA ROW, Andhra University, Waltair, Indien, bestens für die Überlassung einer Probe seines Präparates [4].

¹³⁾ Wir danken Herrn Prof. M. ISHIDATE, Pharm. Institut der Universität Tokio, bestens für die Überlassung einer Probe Theasapogenol und Dihydrotheasapogenol [11].

¹⁴⁾ Sichtbarmachung der Flecke durch Besprühen mit Cersulfat-Schwefelsäure-Reagens und Erwärmen auf ca. 110° [15].

ten, das beim Acetylieren das Tetraacetat **15** (Präp. WST 32) liefert. Das Auftreten der Spitzen bei 390 (**a** – 60) und 263 (**g**) im Massenspektrum von **15** (Fig. 9) zeigt, dass sich die Isopropylidengruppe in den Ringen A und B befinden muss. Durch Vergleich der NMR.-Spektren von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin (Fig. 11) und Tetra-O-acetyl-mono-O-isopropyliden-gymnemagenin (Fig. 13) erkennt man, dass durch den Ersatz von zwei Acetoxygruppen durch eine Isopropylidengruppe die drei Protonen bei 3,68, 3,84 und 4,74 ppm nach höherem Feld verschoben wurden. Somit sind durch die Isopropylidengruppe eine sekundäre und eine primäre HO-Gruppe verbunden. Unter Annahme einer 3 β -ständigen sekundären HO-Gruppe kommen für die primäre nur die Stellungen 23 und 24 in Frage. Durch das NMR.-Spektrum von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin (Fig. 11) konnte zugunsten der 23-Stellung entschieden werden, da die Lage des dieser Gruppe entsprechenden *AB*-Spektrums (Zentrum bei 3,76 ppm) gut mit den in der Literatur [16] [17] [18] angegebenen Werten für eine 4-ständige äquatoriale CH₂OAc-Gruppe übereinstimmt.

Die Lage der vier übrigen Hydroxylgruppen, die sich in den Ringen D und E befinden müssen, ist noch nicht vollständig geklärt. Da sich alle Hydroxylgruppen leicht acetylieren lassen, kommt die 19-Stellung nicht in Betracht (19 α OH vgl. [19], 19 β OH vgl. [20]). Im Massenspektrum des Gymnemagenins (Fig. 6) ist bei *m/e* 233 eine deutliche Spitze sichtbar, die auf Grund des zugehörigen metastabilen Ions durch Abspaltung von CH₂OH aus einem Fragment der Massenzahl 264 (**a** – 18) entsteht. Dies zeigt, dass eine zweite primäre HO-Gruppe in diesem Teil der Molekel enthalten ist. Dafür spricht auch das NMR.-Spektrum von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin (Fig. 11). Bei 3,88 und 4,24 ppm sind darin Signale (je einem H entsprechend) sichtbar, die einem *AB*-Spektrum (*J* = 11 Hz) zugeordnet werden können. Für diese primäre Alkoholgruppe kommen somit nur die Stellungen 27, 28, 29 und 30 in Frage. Die 27-Stellung ist auf Grund des NMR.-Spektrums (Fig. 11) sehr unwahrscheinlich. Eine primäre HO-Gruppe in dieser Stellung ist nämlich für 7 β -Hydroxy-A₁-barrigenol **4** bewiesen [5]. Das Hexa-O-acetylderivat dieses Stoffes zeigt die Signale der beiden an C-27 befindlichen Protonen bei 5,18 ppm (*s*) [16]. Bei so tiefem Feld ist im Spektrum des Hexa-O-acetyl-gymnemagenins zwar ein *AB*-Spektrum sichtbar (Zentrum bei 5,31 ppm), das aber sicher der Glykolgruppierung zuzuordnen ist. Das bei nächst höherem Feld sichtbare *AB*-Spektrum hat das Zentrum bei 4,13 ppm und kann daher kaum den beiden H-Atomen einer 27-CH₂OAc-Gruppe entsprechen. Die primäre Hydroxylgruppe dürfte sich somit in 28-, 29- oder 30-Stellung befinden, wobei die 28-Stellung aus Analogiegründen am wahrscheinlichsten ist.

Für die restlichen drei sekundären HO-Gruppen der Ringe D und E stehen die Stellungen 15, 16, 21 und 22 zur Verfügung. Zwei davon müssen zudem benachbart stehen, weil Gymnemagenin mit Benzidin-Perjodat [9] und Bleitetraacetat [10] eine positive Reaktion zeigt. Im NMR.-Spektrum des Hexa-O-acetylderivates (Fig. 11) ist ein *AB*-Spektrum (je ein H bei 5,15 und 5,41 ppm, *J* = 11 Hz) sichtbar, das dieser Glykolgruppe zugeordnet werden kann. Die Kopplungskonstante von 11 Hz spricht für die diäquatoriale Lage der Hydroxylgruppen, so dass sich diese Glykolgruppe in 15 α , 16 β - oder 21 β , 22 α -Stellung¹⁵⁾ befinden muss.

¹⁵⁾ Unter der Annahme, dass die Ringe D und E *cis* verknüpft sind (18 β H) und der Ring E in der Sesselform vorliegt.



Fig. 4. Massenspektrum von Gymnemagenin, $C_{30}H_{50}O_6$, $M = 506$, Anionenspektrum¹⁶⁾ 17). Methodik vgl. [23]. $T_v = 250^\circ$, $t_E = 30$ s. Versuchsweise Zuordnung: 624, 622 = ?, 541 = $M - 1 + 36$ (HCl, Verunreinigung aus Apparatur), 505 = $M - 1$, 487 = $M - 1 - 18$, 486 = $M - 2 - 18$, 475 = $M - 31$ (CH_2OH ?), 473 = $M - 2 - 31$ (CH_2OH ?), 468 = $M - 2 - 2H_2O$, 457 = 473 - 18, 454 = $M - 52$ (?), 438 = 457 - 1 - 18, 437 = 457 - 2 - 18.

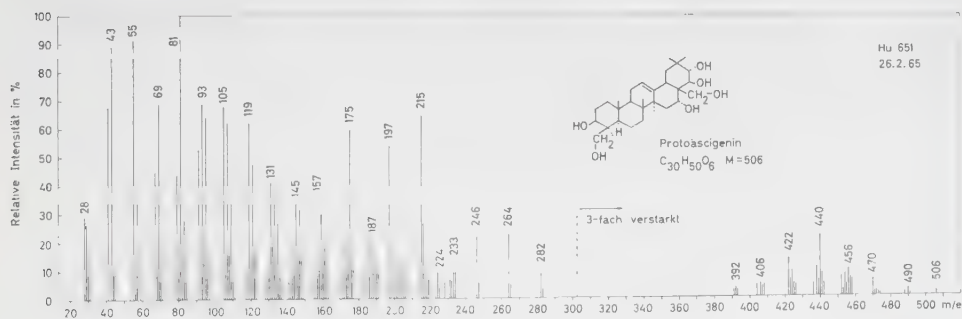


Fig. 5. Massenspektrum von Protoäscigenin⁹⁾, Smp. 310° , $C_{30}H_{50}O_6$, $M = 506$, Kationenspektrum¹⁸⁾. Versuchsweise Zuordnung: 506 = M , 490 = Barringtonenol C (vermutlich Verunreinigung¹⁰⁾), 488 = $M - H_2O$, 472 = 490 - H_2O , 470 = 488 - H_2O , 458 = 488 - CH_2O , 456 = 488 - CH_3OH ?, 454 = 472 - H_2O , 452 = 470 - H_2O , 440 = 470 - CH_2O , 422 = 440 - H_2O , 404 = 422 - H_2O , 282 = **a**, 264 = **a** - H_2O (Metastabiles Ion m^* ber: 247,3; gef: 247), 246 = 264 - H_2O (m^* ber: 229,2; gef: 229), 233 = 264 - CH_2OH , 224 = **b**, 223 = **g**, 215 = 246 - CH_2OH , 197 = 215 - H_2O (m^* ber: 180,5; gef: 181), 175 = **g** - H_2O - CH_2O oder **b** - H_2O - CH_2OH .

¹⁶⁾ Wir danken den Herren Prof. M. v. ARDENNE und Dr. R. TÜMLER, Dresden, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

¹⁷⁾ Das Spektrum wurde bis $m/e = 130$ aufgenommen, doch treten im untern Bereich keine weiteren Spitzen mehr auf.

¹⁸⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. H. HÜRZELER, Physiklabor, CIBA AKTIENGESellschaft, Basel, mit einem ATLAS-Massenspektrometer CH_4 , Elektronen-Energie 70 eV, Elektronenstrom 35 μA . Wir danken Herrn Dr. H. HÜRZELER auch hier bestens für die Aufnahme und Interpretation dieser Spektren.

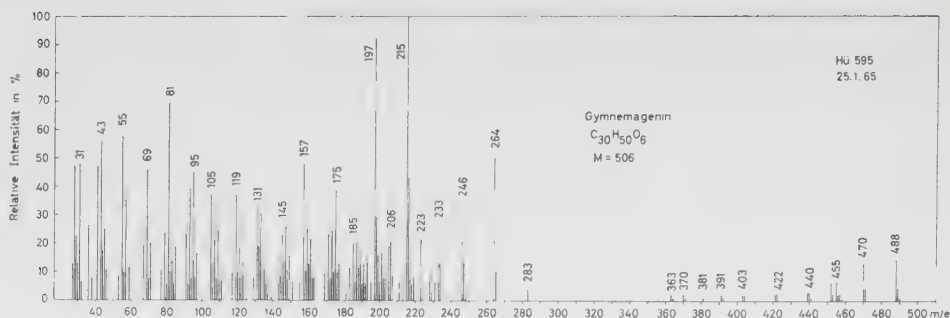


Fig. 6. Massenspektrum von Gymnemagenin, Smp. 328–335° (Zers.), $C_{30}H_{50}O_6$, $M = 506$, Kationen-spektrum¹⁸⁾). Versuchsweise Zuordnung: 506 = M (nur in geringer Intensität sichtbar; ca. 0,5% von 488), 488 = $M - H_2O$, 470 = 488 – H_2O (m^* ber: 452,7; gef: 453), 457 = 488 – CH_2OH , 455 = 470 – CH_3 (m^* ber: 440,5; gef: 441), 452 = 470 – H_2O (m^* ber: 434,7; gef: 435), 440 = 470 – CH_2O , 439 = 470 – CH_2OH , 422 = 440 – H_2O , 421 = 439 – H_2O , 404 = 422 – H_2O , 403 = 421 – H_2O , 391 = 422 – CH_2OH oder 421 – CH_2O , 283 = $a + H$?, 264 = $a - H_2O$, 246 = 264 – H_2O (m^* ber: 229,2; gef: 229), 233 = 264 – CH_2OH (m^* ber: 205,6; gef: 206), 223 = g , 215 = 233 – H_2O , 197 = 215 – H_2O (m^* ber: 180,5; gef: 181), 175 = $g - H_2O - CH_2O$.

Fig. 7. Massenspektrum von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin, Smp. 290–291°, $C_{42}H_{62}O_{12}$, $M = 758$ ¹⁸⁾. Versuchsweise Zuordnung: 758 = M (nur schwach, nimmt rasch ab), 698 = $M - AcOH$, 683 = 698 – CH_3 , 638 = 698 – $AcOH$ (m^* ber: 583,1; gef: 582,5), 623 = 638 – CH_3 , 596 = 638 – 42 (CH_2CO ?²⁰⁾), 578 = 638 – $AcOH$ (m^* ber: 523,6; gef: 523,5), 565 = 638 – 73 (CH_2OCOCH_3), 563 = 578 – CH_3 , 536 = 578 – 42 (CH_2CO ?²⁰⁾, m^* ber: 497,1; gef: 497,5), 518 = 578 – $AcOH$ (m^* ber: 464,2; gef: 464), 505 = 578 – 73 (CH_2OCOCH_3), 503 = 518 – CH_3 , 476 = 536 – $AcOH$, 390 = $a - AcOH$, 331 = 390 – 59 ($OCOCH_3$?), 330 = 390 – $AcOH$, 307 = g , 270 = 330 – $AcOH$, 257 = 330 – 73 (CH_2OCOCH_3), 248 = $b - AcOH$, 247 = $g - AcOH$, 215 = 257 – 42 (CH_2CO ?²⁰⁾), 210 = 270 – $AcOH$?, 197 = 270 – 73 (CH_2OCOCH_3) resp. 257 – $AcOH$, 188 = $b - 2AcOH$.

Fig. 8. Massenspektrum von Hexa-O-acetyl-11-oxo-gymnemagenin, Smp. 315,5–316°, $C_{42}H_{60}O_{13}$, $M = 772$ ¹⁸⁾. Versuchsweise Zuordnung: 788 = ? (sehr schwach, Verunreinigung, ev. 18-OH oder Epoxid), 772 = M , 757 = $M - CH_3$, 712 = $M - AcOH$, 699 = $M - 73$ (CH_2OCOCH_3), 697 = 712 – CH_3 , 670 = 712 – 42²⁰⁾, 652 = 712 – $AcOH$, 639 = 712 – 73 (CH_2OCOCH_3), 637 = 652 – CH_3 , 610 = 670 – $AcOH$, 592 = 652 – $AcOH$, 579 = 652 – 73 (CH_2OCOCH_3), 550 = 610 – $AcOH$ oder/und 592 – 42²⁰⁾ (m^* ber: 511,0; gef: 511), 532 = 592 – $AcOH$, 517 = 532 – CH_3 , 505 = j , 490 = $j - CH_3$, 445 = $j - AcOH$, 404 = $a - AcOH$, 385 = 445 – $AcOH$, 344 = 404 – $AcOH$, 325 = 385 – $AcOH$, 284 = 344 – $AcOH$, 283 = 325 – 42²⁰⁾, 271 = 344 – 73 (CH_2OCOCH_3), 265 = 325 – $AcOH$, 229 = 271 – 42²⁰⁾.

Fig. 9. Massenspektrum von Tetra-O-acetyl-mono-O-isopropyliden-gymnemagenin (Präp. WST 32), Smp. 305–306°, $C_{41}H_{62}O_{10}$, $M = 714$ ¹⁸⁾. Versuchsweise Zuordnung: 715 = $M + H$ ²¹⁾, 714 = M , 699 = $M - CH_3$ ²²⁾, 654 = $M - AcOH$, 639 = 654 – CH_3 , 612 = 654 – 42 (CH_2CO ?²⁰⁾, m^* ber:

¹⁹⁾ Von Gymnemagenin wurde auch von Prof. C. DJERASSI, Stanford University, ein Massenspektrum aufgenommen, das sich nur wenig von jenem von Fig. 6 unterscheidet. Wir danken auch hier Herrn Prof. C. DJERASSI bestens für die Aufnahme und Interpretation dieses Spektrums.

²⁰⁾ Abspaltung von Keten ($CH_2CO = 42$) aus Acetylgruppe an Doppelbindung, wobei die Doppelbindung durch vorangegangene $AcOH$ -Abspaltung entstanden sein kann (vgl. [24][25]).

²¹⁾ $M + 1$ -Ionen werden häufig bei Äthern beobachtet; vgl. [26].

²²⁾ CH_3 -Abspaltung bei O-Isopropylidengruppen sehr häufig (vgl. [27]).

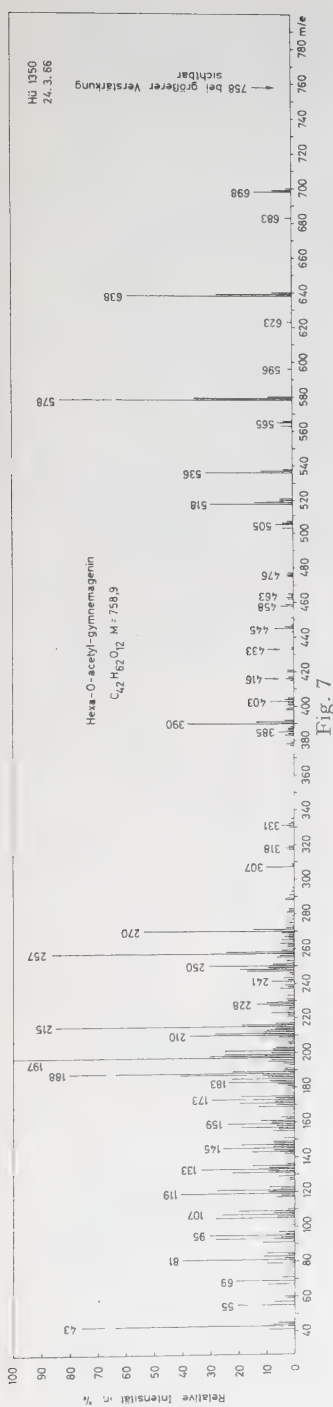


Fig. 7

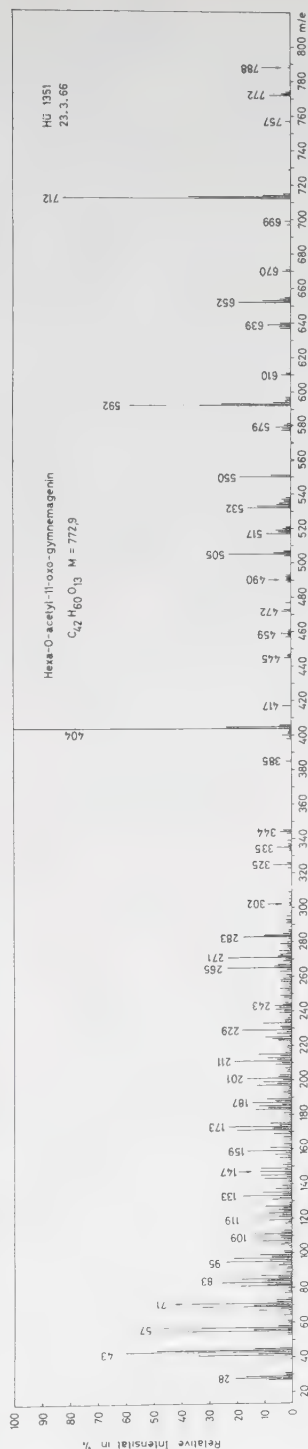


Fig. 8

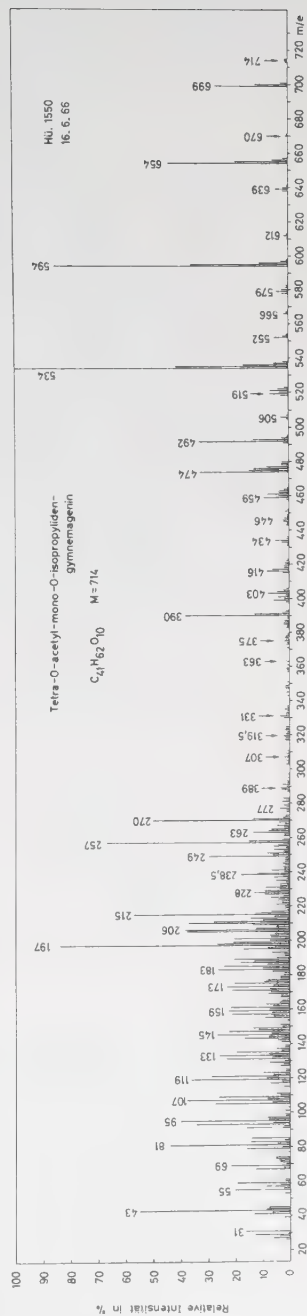


Fig. 9

539,5; gef: 540), 579 = 594-CH₃, 534 = 594-AcOH (*m** ber: 480,1; gef: 480,5), 521 = 594-73 (CH₂OCOCH₃), 519 = 534-CH₃, 492 = 534-42 (CH₂CO²⁰), *m** ber: 453,3; gef: 453,5), 474 = 534-AcOH (*m** ber: 420,7; gef: 421,5), 459 = 474-CH₃, 390 = **a**-AcOH, 330 = 390-AcOH (schwach), 270 = 330-AcOH, 263 = **g**, 257 = 330-73 (CH₂OCOCH₃), 249 = **b**-CH₃, 215 = 257-42²⁰), 210 = 270-AcOH, 206 = **b**-58 (CH₃COCH₃), 205 = **g**-58 (CH₃COCH₃), 197 = 270-73 (CH₂OCOCH₃).

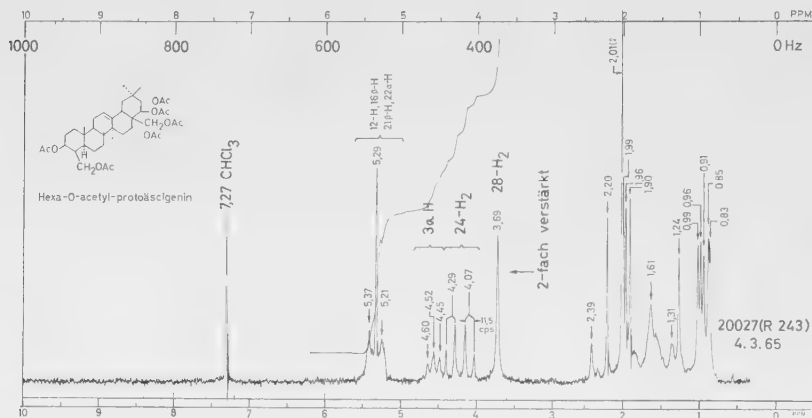


Fig. 10. Protonenresonanzspektrum von Hexa-O-acetyl-protosäcigenin, Smp. 139–140°, C₄₂H₆₂O₁₂⁹⁾, 0,06 M in CDCl₃²³⁾ Zuordnung vgl. auch [14] [29].

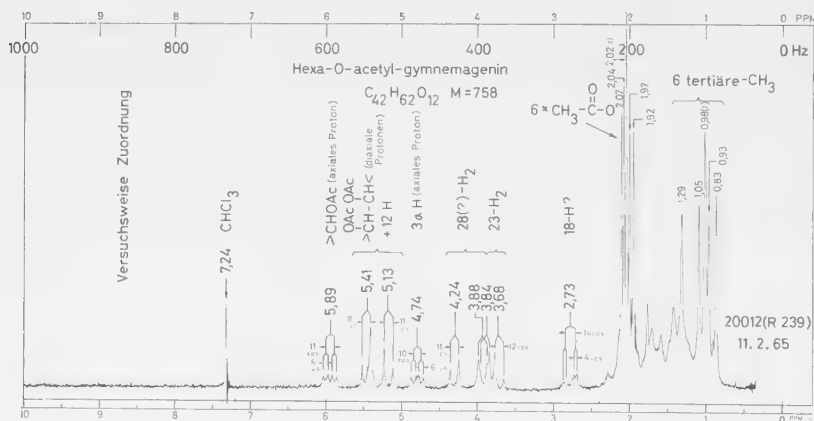


Fig. 11. Protonenresonanzspektrum von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin, Smp. 290–291°, C₄₂H₆₂O₁₂, 0,07 M in CDCl₃²³⁾. Ein weiteres Spektrum wurde in C₆D₆ aufgenommen²³⁾. CH₃: 0,81; 0,83; 0,95; 0,97; 1,25; 1,39. CH₃CO: 1,84 (3); 1,86; 1,95; 2,03. CH₂OAc: 3,96 (2H, s), CH₂OAc: je ein H bei 4,18 und 4,79 (*J* = 11 Hz), 3 α H: 5,06 (*q*, *J*₁ = 5 Hz, *J*₂ = 11 Hz), 12-H: 5,29 (s, breit), AcOCH-CHOAc: je ein H bei 5,49 und 5,81 (*J* = 11 Hz), CHOAc: 6,27 (*q*, *J*₁ = 6 Hz, *J*₂ = 12 Hz).

²³⁾ Wir danken auch hier Herrn P.D. Dr. R. F. ZÜRCHER und Herrn Dr. F. STUBER, CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, bestens für die Aufnahme und Interpretation dieser Spektren. Aufnahmebedingungen: VARIAN-Spektrograph 100 MHz, *t* = 35°, interner Standard = Tetramethylsilan (TMS). Weitere Angaben siehe ZÜRCHER [28].

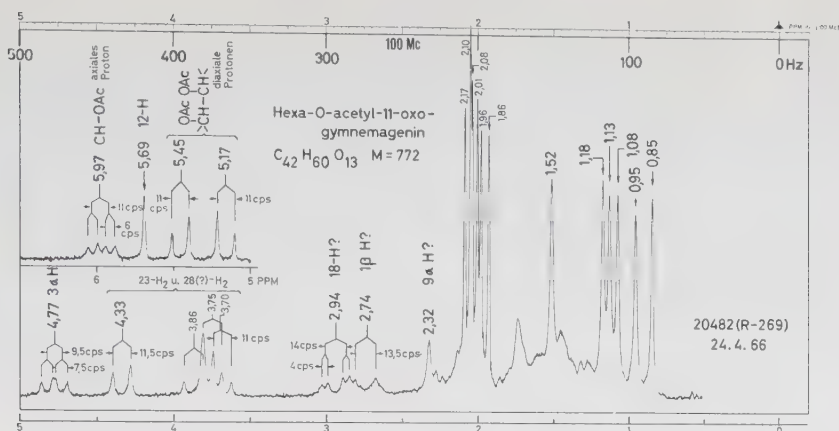


Fig. 12. Protonenresonanzspektrum von Hexa-O-acetyl-11-oxo-gymnemagenin, Smp. 315,5–316°, $C_{42}H_{60}O_{13}$, 0,07 M in $CDCl_3$ ²³). Das Signal des Vinylprotons bei 5,69 ppm ist hier deutlich neben dem AB-Spektrum als Singlett sichtbar. Bei 11-Oxosteroiden tritt das äquatoriale 1β -H bei 2,45 ppm (Dublett, $J = 12$ Hz) [30] [31] und das 9α -H (Singlett) bei 2,27 ppm [31] auf. In diesem Spektrum lassen sich nun auch deutlich 6 Acetylgruppen feststellen, was in Fig. 11 nicht der Fall war.

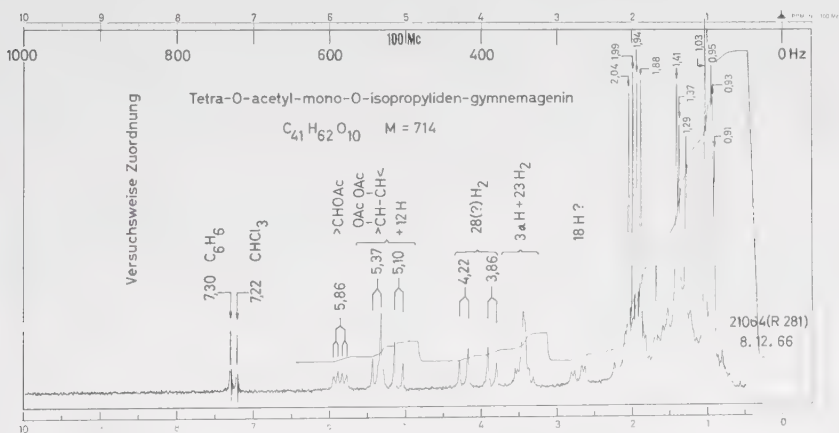


Fig. 13. Protonenresonanzspektrum von Tetra-O-acetyl-mono-O-isopropyliden-gymnemagenin (Präp. WST 32), Smp. 305–306°, $C_{41}H_{62}O_{10}$, 0,07 M in $CDCl_3$ ²³).

Das weitere Quartett bei 5,89 ppm (X-Teil eines ABX-Spektrums mit 5 Hz und 10 Hz Aufspaltung) entspricht der dritten sekundären HO-Gruppe, die wie folgt

gebunden sein muss: $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH})-\text{C}-$, also auf der einen Seite von einer CH_2 -Gruppe und

auf der andern von einem voll substituierten C-Atom flankiert. Auch hier spricht die Aufspaltung des Signals für eine äquatoriale Lage des Substituenten. Dabei ist erstaunlich, dass das Signal eines axialen Protons bei derart tiefem Feld erscheint. Normalerweise absorbieren axiale Protonen neben einer Acetylgruppe bei höherem

Feld (ca. 4,0–4,8 ppm) als äquatoriale Protonen (5,0–5,5 ppm) [21] [16]. Die hier auftretende deutliche Verschiebung nach tieferem Feld kann von starken 1,3-Wechselwirkungen zwischen dem axialen Proton und axialen tertiären Methylgruppen oder C–C-Bindungen herrühren [22] [16]. Solche Wechselwirkungen sind bei einem Δ^{12} -Oleanen-Gerüst speziell für das 15β - oder für das 16α -Proton zu erwarten (für 16α -H vgl. [16]). Ohne weitere Untersuchungen können aber die Formeln **8** und **10** nicht denjenigen von **9** und **11** vorgezogen werden.

Ich danke Herrn Prof. T. REICHSTEIN für viele Anregungen sowie für das grosse Interesse, das er dieser Arbeit entgegengebracht hat. Ferner danke ich Herrn Dr. EK. WEISS für viele Diskussionsbeiträge, dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit und dem STIPENDIENFONDS ZUR UNTERSTÜTZUNG VON DOKTORANDEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE für ein Stipendium.

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben und Abkürzungen siehe vorstehende Mitteilung [1].

Hydrierungsversuch von Hexa-O-acetyl-gymnemagenin. 12,9 mg Hexa-O-acetyl-gymnemagenin wurden in 2 ml AcOH mit 25 mg vorhydriertem PtO_2 bei 25° in H_2 -Atmosphäre geschüttelt. Innerhalb von 6 Std. wurde keine Spur Wasserstoff aufgenommen.

Hexa-O-acetyl-11-oxo-gymnemagenin. 50 mg Hexa-O-acetyl-gymnemagenin wurden in 0,75 ml AcOH gelöst und mit 0,50 ml 1-proz. CrO_3 -Lösung in AcOH versetzt. Nach 24 Std. wurde aufgearbeitet und das Rohprodukt, das noch merkliche Mengen unumgesetztes Material enthielt, über Kieselgel gereinigt. Aus Be-Pn 25,1 mg feine Nadeln, Smp. $315,5\text{--}316^\circ$, $[\alpha]_D = +41,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,34$ in Chf)⁵. UV.-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 242,5$ nm ($\log \epsilon = 4,08$). IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2): 1659 und 1622 cm^{-1} . NMR.-Spektrum vgl. Fig. 12. Massenspektrum vgl. Fig. 8. Optische Rotationsdispersion in Me_2S : 217 nm $[\Phi] = -14200$, 235 nm $[\Phi] = +11800$, 300 nm $[\Phi] = +3300$, 400 nm $[\Phi] = +590$. Optische Rotationsdispersion in Diox^3 : 204 nm $[\Phi] = -16200$, 238 nm $[\Phi] = +12500$, 300 nm $[\Phi] = +1250$, 400 nm $[\Phi] = 0$.

Isopropylidenderivate von Gymnemagenin. 85,4 mg Gymnemagenin wurden mit 85 ml An und 500 mg wasserfreiem CuSO_4 10 Tage bei 25° geschüttelt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 104,5 mg Rohprodukt erhalten. Durch präparative DC im System Chf-Me (9:1) konnten 2 Isopropylidenderivate in reiner Form isoliert werden. 1. 52,8 mg *Di-O-isopropyliden-gymnemagenin* (Präp. WST 23), aus Ae 28,8 mg Drusen, Smp. $280\text{--}281^\circ$, $[\alpha]_D = +32,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf); 2. 9,0 mg *Mono-O-isopropyliden-gymnemagenin* (Präp. WST 21), aus Chf-Ae 4,5 mg Drusen, Smp. $276\text{--}281^\circ$.

Tetra-O-acetyl-mono-O-isopropyliden-gymnemagenin (Präp. WST 32). Aus Ae feine Nadeln, Smp. $305\text{--}306^\circ$. Massenspektrum vgl. Fig. 9, NMR.-Spektrum vgl. Fig. 13. IR.-Spektrum zeigt keine OH-Bande.

$\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{10}$ (715,05) Ber. C 68,88 H 8,74% Gef. C 69,15 H 8,90%

Die C, H-Analysen wurden von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor unseres Institutes ausgeführt.

SUMMARY

Gymnemagenin, the aglycone obtained from gymnemic acid by fermentative degradation and alkaline hydrolysis, is probably a new hexahydroxy-triterpene. The proposed structures are derived mainly from data obtained by physical methods. Gymnemagenin is probably a $3\beta, 15\alpha$ (or 16β), $21\beta, 22\alpha, 23, 28$ - or $3\beta, 15\alpha, 16\beta, 21\beta$ (or 22α), $23, 28$ -hexahydroxy-olean-12-ene. Further experimental information is necessary for decision concerning the correct structure.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] W. STÖCKLIN, Ek. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 474 (1967).
- [2] J. KARLINER & C. DJERASSI, *J. org. Chemistry* **31**, 1945 (1966).
- [3] R. KUHN & I. LÖW, *Liebigs Ann. Chem.* **669**, 183 (1963).
- [4] L. RAMACHANDRA ROW & C. S. PRAKASA SASTRY, *Indian J. Chemistry* **1**, 322 (1963); *Chem. Abstr.* **59**, 14031 (1963).
- [5] J. O. KNIGHT & D. E. WHITE, *Tetrahedron Letters* **1961**, 100.
- [6] I. YOSIOKA, T. NISHIMURA, A. MATSUDA & I. KITAGAWA, *Symposium Papers of the 10th Symposium on the Chemistry of Natural Products, Tokyo 1966*, p. 286; *idem*, *Tetrahedron Letters* **1966**, 5979.
- [7] C. DJERASSI, H. BUDZIKIEWICZ & J. M. WILSON, *Tetrahedron Letters* **1962**, 263.
- [8] H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 3688 (1963).
- [9] D. F. MOWERY, *Analyt. Chemistry* **29**, 1560 (1957).
- [10] J. G. BUCHANAN, C. A. DEKKER & A. G. LONG, *J. chem. Soc.* **1950**, 3162.
- [11] Yo UEDA, *Pharmac. Bull. (Japan)* **2**, 175 (1954); *Chem. Abstr.* **50**, 897 (1956).
- [12] A. K. BARUA, P. C. MAITI & S. K. CHAKROBORTI, *J. pharmaceut. Sci.* **50**, 937 (1961); *Chem. Abstr.* **56**, 7423 (1961).
- [13] R. KUHN & I. LÖW, *Tetrahedron Letters* **1964**, 891.
- [14] R. TSCHESCHE & G. WULFF, *Tetrahedron Letters* **1965**, 1569.
- [15] D. WALDI, in E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag 1962, p. 496.
- [16] M. SHAMMA, R. E. GLICK & R. O. MUMMA, *J. org. Chemistry* **27**, 4512 (1962).
- [17] A. GAUDEMER, J. POLONSKY & E. WENKERT, *Bull. Soc. chim. France* **1964**, 407.
- [18] K. N. N. AYENGAR & S. RANGASWAMI, *Tetrahedron Letters* **1966**, 1947.
- [19] P. BILHAM, G. A. R. KON & W. C. J. ROSS, *J. chem. Soc.* **1942**, 540.
- [20] L. RAMACHANDRA ROW & G. S. R. SUBBA RAO, *Tetrahedron* **18**, 827 (1962).
- [21] J. N. SHOOLERY & M. T. ROGERS, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 5121 (1958).
- [22] S. BROWNSTEIN, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 1606 (1959).
- [23] M. v. ARDENNE, R. TÜMLER, Ek. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **47**, 1032 (1964).
- [24] K. BIEMANN, D. C. DEJONGH & H. K. SCHNOES, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 1763 (1963).
- [25] K. HEYNS & D. MÜLLER, *Tetrahedron Letters* **1966**, 6061.
- [26] F. W. McLAFFERTY, *Analyt. Chemistry* **29**, 1782 (1957).
- [27] D. C. DEJONGH & K. BIEMANN, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 67 (1964).
- [28] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **44**, 1380 (1961); **46**, 2054 (1963).
- [29] R. KUHN & I. LÖW, *Tetrahedron* **22**, 1899 (1966).
- [30] D. H. WILLIAMS, N. S. BHACCA & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 2810 (1963).
- [31] N. S. BHACCA & D. H. WILLIAMS, «Applications of NMR spectroscopy in Organic Chemistry, Illustrations from the Steroid Field», Holden-Day Inc., San Francisco, Amsterdam 1964.

Curriculum vitae

Ich, WALTER STÖCKLIN, wurde am 28. August 1938 als erstes Kind der Eheleute Walter und Yvonne Stöcklin-Farinoli von Ettingen in Basel geboren.

Nach 3 Jahren Primarschule in Oberwil und einem Jahr in Basel trat ich ins Mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Basel ein. Ich schloss dort im April 1958 mit der Maturität ab.

Im Sommersemester 1958 begann ich mein Chemiestudium an der Universität Basel. Nach 4 bzw. 5 Semestern legte ich das 1. bzw. 2. Vordiplom, mit den Pflichtfächern Mathematik und Physik und den Wahlfächern Zoologie und Mineralogie, ab. Im 4. Semester habe ich das anorganische Vorexamen und vor dem 8. Semester das Farbenexamen mit Erfolg bestanden. Nach 8 Semestern habe ich im Frühjahr 1962 die Diplomprüfung in den Fächern anorganische, organische und physikalische Chemie abgelegt.

Sofort nach dem Diplom habe ich bei Herrn Prof. Dr. T. Reichstein meine Dissertation begonnen und schloss sie im Sommersemester 1965 ab.

Im Verlauf meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Dozenten: O. Angehrn; P. Bearth; M. Brenner; P. Buchner; H. Dahn; P. Diehl; H. Erlenmeyer; S. Fallab; C. Grob; F. Grün; G. Huber; P. Huber; W. Kuhn; H. Labhart; E. Miescher; H. Nüesch; T. Reichstein; Ch. Tamm; E. Wenk; R. Wizinger.

